

**UNTERSUCHUNGEN
ZUR HIPPURSÄUREAUSSCHIEDUNG IM MENSCHLICHEN
URIN NACH MEDIKAMENTENEINNAHME**

von
Bernd Schubert
aus

Braunau/Sud.

1972

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

**UNTERSUCHUNGEN
ZUR HIPPURSÄUREAUSSCHIEDUNG IM MENSCHLICHEN
URIN NACH MEDIKAMENTENEINNAHME**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Bernd Schubert
aus
Braunau/Sud.

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. H. Pauly
Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.1972

Disposition

	Seite
1. EINLEITUNG	5
1.1. <u>Theoretische Betrachtung der Hippursäure</u>	6
1.1.1. Komponenten	6
1.1.1.1. <u>Benzoessäure</u>	6
1.1.1.2. <u>Glykokoll</u>	7
1.1.2. Die Kopplung von Glykokoll und Benzoessäure	9
1.1.3. Ort der Synthese	9
1.1.4. Chemische und physikalische Eigenschaften der Hippursäure	10
1.1.5. Hippursäure und Benzoylglucuronid	11
1.1.6. Tägliche Ausscheidung	12
1.2. <u>Die Hippursäureausscheidung beim Menschen</u>	13
1.2.1. Exogene Faktoren	13
1.2.1.1. <u>Nahrungsmittel</u>	13
1.2.1.2. <u>Chemische Verbindungen</u>	14
1.2.2. Endogene Faktoren	16
1.2.3. Der QUICK-Test	18
2. PROBLEMSTELLUNG	20
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	21

3.1.	<u>Auswahl der Versuchsperson</u>	21
3.2.	<u>Versuchstechnik</u>	21
3.3.	<u>Wiederfindungsversuch mit Hippursäure</u>	24
3.4.	<u>Wiederfindungsversuch mit Benzoessäure</u>	26
3.5.	<u>Hippursäureausscheidung im Versuch mit Normalkost</u>	29
3.6.	<u>Hippursäureausscheidung im Diätversuch</u>	29
3.7.	<u>Das Pharmakon</u>	31
3.8.	<u>Hippursäureausscheidung nach Pyramidoneinnahme</u>	32
3.9.	<u>Tabellarische und graphische Darstellung der Versuchsergebnisse</u>	34
4.	DISKUSSION	40
4.1.	<u>Normalversuch</u>	40
4.2.	<u>Diätversuch</u>	41
4.3.	<u>Pyramidoneinnahme und Hippursäureausscheidung</u>	42
4.4.	<u>Die Tage nach der Diätzeit</u>	42
4.5.	<u>Vergleich der Werte bei Diät- und Normalkost</u>	43
4.6.	<u>Unterschiedliche Hippursäuremengen der Morgen- und Abendproben</u>	43
5.	ZUSAMMENFASSUNG	45
6.	LITERATURVERZEICHNIS	46

1. EINLEITUNG

1829 isolierte LIEBIG zum ersten Male Hippursäure aus Pferdeharn.

12 Jahre später entdeckte URE die Bedeutung der Hippursäure für den menschlichen Organismus. Er erkannte die Koppelung von Benzoessäure und Glykokoll als Entgiftungsreaktion.

Die darauffolgenden Untersuchungen bestätigten die gleichartige Funktion bei Mensch und Tier als Entgiftung, ergaben aber, daß die Ergebnisse der Tierversuche kaum auf den Menschen zu übertragen waren.

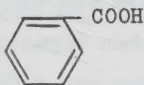
In den letzten fünf Jahrzehnten wurden viele neue Faktoren, die die Ausscheidung der Hippursäure beeinflussen, bekannt. Trotz vieler Forschungen ergab sich noch kein eindeutiges Bild.

Dieser kurze geschichtliche Streifzug und der folgende Überblick über die Hippursäure sind eine zusammenfassende Darstellung der Dissertation von KADELBURG (1971): Die Hippursäureausscheidung im Urin.

1.1. Theoretische Betrachtung der Hippursäure

1.1.1. Komponenten

1.1.1.1. Benzoessäure



Benzoessäure und Parahydroxybenzoessäure sind als Konservierungsmittel verbreitet und werden so direkt aufgenommen (MÖLLER 1961, DERACHE und GOURDON 1963, VAN SUMERE und Mitarb. 1969). Die Hauptmenge entsteht jedoch im Körper aus einer Vorstufe, der Chinasäure. Diese gelangt durch pflanzliche Nahrungsmittel und auch Kaffee usw. in den Organismus. Sie ist keine aromatische Verbindung. Der Vorgang der Aromatisierung zu Benzoessäure ist im einzelnen noch ungeklärt, erfolgt aber wohl nicht durch den menschlichen Organismus (LANG 1960) sondern wahrscheinlich mit Hilfe von Darmbakterien (BODEL und Mitarb. 1959, WILLIAMS 1959, BRIDGES 1970).

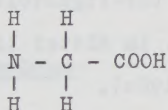
Es wurde das Ansteigen der Hippursäureausscheidung nach Chinasäuregabe nachgewiesen (BEER und Mitarb. 1951, WILLIAMS 1959, DICKENS und PEARSON 1951, BERNHARD und Mitarb. 1955, BRIDGES 1970, ADAMSON 1970).

Geringe Mengen von Benzoesäure entstehen beim Eiweißstoffwechsel (BERNHARD und Mitarb. 1955, LANG 1960, VOLLGRAFF 1967) aus Fäulnisvorgängen im Darm (STRUWE 1953) und fermentativen Prozessen (VOLLGRAFF 1967).

Im Organismus wird die Benzoesäure rasch resorbiert (SCHANKER und Mitarb. 1958, VOGEL und Mitarb. 1966), mit Glykokoll zu Hippursäure konjugiert und so entgiftet und ausgeschieden.

In hohen Dosen wirkt die Benzoesäure toxisch. Diese Wirkung läßt sich durch gleichzeitige Gabe von Glykokoll mindern oder ganz aufheben (LANG 1960). Die Angaben über die toxische Menge beim Menschen schwanken zwischen 5,7 g und 33 g.

1.1.1.2. Glykokoll



Glykokoll ist eine nicht essentielle Aminosäure. Sie findet sich in geringer Konzentration in den Organen, Geweben und Blut (STRUWE 1953). Glykokoll entsteht im

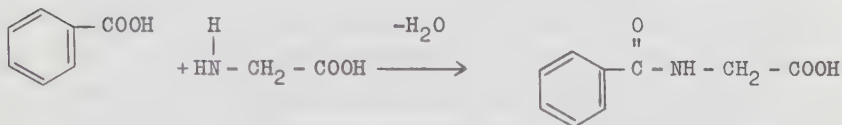
Organismus synthetisch aus Zwischenprodukten des Kohlehydrat- und Eiweißstoffwechsels oder hydrolytisch aus Proteinen (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1957, GARFINKEL und LAJTHA 1963, LOWE und WILLIAMS 1965).

Die Umwandlung verwandter Aminosäuren wie Serin, Threonin und Sarcosin gilt als wichtigster Bildungsvorgang (STRUWE 1953, LANG 1960, DERACHE und GOURDON 1963, GARFINKEL 1963, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, WEBB und Mitarb. 1966). Mit Sicherheit ist es die Leber, die das Glykokoll liefert, da ihr Gehalt an freiem Glykokoll höher ist als der jeden anderen Organs (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956). Die Glykokollmenge hängt vom Funktions- und Ernährungszustand der Leber ab (STRUWE 1953).

Aus diesem Grund ist die maximale Menge, die pro Zeiteinheit an Glykokoll bereitgestellt werden kann, begrenzt (STRUWE 1953), im Mittel 12 mM/Std. und 100 g Körpergewicht (LANG 1960).

1.1.2. Die Kopplung von Glykokoll und Benzoessäure

Durch die Verbindung von Glykokoll und Benzoessäure mittels Säureamidbindung entsteht Hippursäure.



Diese Koppelung ist ein fermentativer, endothermer, aerober Vorgang (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1954a). Die dafür benötigte Energie wird aus dem oxydativen Abbau der Brenztraubensäure gewonnen, also aus dem Kohlehydratstoffwechsel, in Form von ATP gebunden und gespeichert, bei Bedarf durch Spaltung freigesetzt und so auf das System der Hippursäurebildung übertragen. (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956, ANONYMUS 1968).

1.1.3. Ort der Synthese

Für die Fähigkeit der menschlichen Niere Hippursäure zu synthetisieren liegen exakte Nachweise vor; ebenso bei Hund und Schwein (STRUWE 1953, DESPOPOULOS 1966, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966).

Die Beteiligung der menschlichen Leber an der Synthese gilt trotz Mangels an Beweisen als sicher. Als aktive Zellstrukturen kommen die Mitochondrien in Betracht (STRUWE 1953, LANG 1960, JOHANNSEN und Mitarb. 1962, LA DOU und Mitarb. 1962, VOLLGRAFF 1967). Für diese Annahme spricht auch die Tatsache, daß sich in der Leber die Reaktionen der Atmungskette abspielen, die als Energielieferanten für die Hippursäuresynthese gelten. In der Literatur besteht Einigkeit darüber, daß nur die Leber die vollständige Entgiftung durchführen kann, während die Niere auf Glykokollzufuhr angewiesen ist.

Andere Gewebe außer Leber und Niere kommen für die Synthese nicht in Betracht.

1.1.4. Chemische und physikalische Eigenschaften der Hippursäure

Formel	$C_6-H_5-CO-NH-CH_2-COOH$
Molekulargewicht	179,17
Schmelzpunkt	187,5° C
Kristalle	lange, rhombische Prismen
Farbe	farblos

Geruch	geruchlos
Dichte	1,371 bei 20° C
Löslichkeit	leichtlöslich in heißem Wasser; löslich in heißem Alkohol; wenig löslich in kaltem Wasser und Alkohol; unlöslich in Benzol, Petroläther, Schwefelkohlenstoff
	in 100 ml Chloroform lösen sich 0,11 g
	in 100 ml Äther lösen sich 0,25 g
	in 100 ml Wasser lösen sich 0,33 g
Salze	Ag-, Cu-, Pb-Salze in Wasser schwer- löslich Fe (III) - Salze unlöslich

1.1.5. Hippursäure und Benzoylglucuronid

Der Organismus kann bis zu einer gewissen Grenze auch unphysiologisch hohe Mengen von Benzoesäure durch die Hippursäuresynthese fast vollständig entgiften, und zwar bis zu 95 % (LA DOU und Mitarb. 1962). Bei höheren Zugaben von Benzoesäure erscheint auch Benzoylglucuronid im Urin. Nach Gabe von 1 - 10 g Natriumbenzoat

per os stieg beim Menschen der Anteil der Benzoessäure-Glucuronsäure-Verbindung an der Gesamtausscheidung der Benzoessäure von 0,4 % auf 3 % und kann bei noch größeren Dosen bis zu 10 % betragen (SCHACHTER 1957). Die Glucuronsäurepaarung stellt einen Reservemechanismus dar, der bei Insuffizienz der Glykokollkoppelung und hoher Benzoessäurebelastung die Hippursäurebildung ergänzt.

Besonders bei Lebererkrankungen kann das Verhältnis zugunsten von Benzoylglucuronid verschoben sein (STRUWE 1953, SCHACHTER 1957, WU und ELLIOTT 1961, PAGNOTTO und LIEBERMANN 1967).

1.1.6. Tägliche Ausscheidung

Hier besteht nur über die Maximalausscheidung von etwa 1 g/Tag unter physiologischen Bedingungen Einigkeit. Hinsichtlich der Tagesmittelwerte schwanken die Angaben von 0,1 - 1,0 g (BÖMER und Mitarb. 1933) bis 1,0-2,5 g (STEIN und Mitarb. 1954). Nur diese letzte Angabe weicht erheblich von denen der übrigen Autoren ab.

1.2. Die Hippursäureausscheidung beim Menschen

1.2.1. Exogene Faktoren

1.2.1.1. Nahrungsmittel

Wichtigster Faktor für die Quantität der ausgeschiedenen Hippursäure sind hier die vegetabilischen Nahrungsmittel, welche die Chinasäure als Vorstufe der Benzoessäure enthalten in Verbindung mit der Darmflora (siehe 1.1.1.1.). Deren Bedeutung wurde von COTRAN und Mitarb. 1960 nachgewiesen: Bei einem Versuch nahmen 3 Versuchspersonen Chinasäure ein, die zu 70 % als Hippursäure ausgeschieden wurde. 2 Personen bekamen nach 4 Tagen, die dritte nach 9 Tagen zusätzlich Neomycin, um die Vermehrung der Darmflora zu unterdrücken. Daraufhin fiel der Hippursäurespiegel schnell auf Normalwerte und tiefer ab, weil die Aromatisierung der Chinasäure durch Ausschaltung der Darmbakterien blockiert war. In einem zweiten Versuch schieden Meerschweinchen orale Gaben von Chinasäure zu 30 % als Hippursäure aus. Bei parenteraler Zugabe blieb die Hippursäureausscheidung unverändert, aber der Gehalt der organischen Säuren insgesamt war im Harn erhöht. Auch glykokollreiche, also eiweißreiche, Ernährung beeinflusst positiv die Hippursäuremenge. Besondere Bedeutung haben hier die

Proteine Elastin und Gelatine (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956). Daneben gibt es auch Nahrungsmittel, welche die Hippursäuremenge erhöhen, wobei aber die Vorstufe nicht bekannt ist. Vermutet werden aromatische Verbindungen in Gemüsen (BODEL und Mitarb. 1959, COTRAN und Mitarb. 1960, PAGNOTTO und LIEBERMANN 1967, ADAMSON 1970).

1.2.1.2. Chemische Verbindungen

Als zweiter exogener Faktor kommen chemische Verbindungen in Betracht. Es sind zwar in diesem Zusammenhang in der Literatur viele Stoffe angegeben, aber nur für wenige die Wirkung bewiesen.

Unter den gesicherten Ergebnissen hat die Zimtsäure eine Bedeutung wegen ihrer Verwendung beim SNAPPER-SALTZMANN-Test.

Die Salicylsäure und ihre Derivate will ich wegen ihrer weiten Verbreitung in Pharmaka erwähnen. Sie wird in freier Form, als Gentisinsäure und Glucuronid oder als Salicylursäure (o-Hydroxy-hippursäure) ausgeschieden. Der letztgenannte Weg überwiegt beim Menschen (KNOEFEL und Mitarb. 1962, AMSEL und LEVY 1969).

Als weiteres Beispiel für einen exogenen Einfluß auf die Hippursäureausscheidung seien Meskalin und Lysergsäurediäthylamid (LSD) genannt.

Diese Rauschgifte führen neben ihrer Wirkung auf die Psyche auch zu pathophysiologischen Reaktionen. Besonders interessiert das Verhalten der Leber, da sie Entgiftungsorgan für diese Noxen ist. Untersuchungen, besonders von FISCHER und Mitarb. (1951), ergaben, daß beide Drogen im Verlauf des Rausches passagere Leberfunktionsstörungen hervorriefen, die sich in einer erniedrigten Hippursäureausscheidung im Urin zeigte.

In Zusammenhang mit therapeutischen Adalinaufnahmen hat SCHMIDT (1956) unter Mitwirkung von WALZ und DEISEL Urinuntersuchungen durchgeführt. WALZ wandte folgende Methoden an:

Mikro- und Vakuumsublimation
Papierchromatographie
Spektrophotometrie
Kristallographie.

Er fand nach Adalinaufnahme Benzoessäure im menschlichen Urin in wechselnden Mengen.

DEISEL hingegen fand mittels einer modifizierten Methode (Ätherausschüttelung des angesäuerten Urins und Trennung

der Extraktionsrückstände durch Vakuumsublimation) bei seinen Versuchen - außer bei Erhitzung der Hippursäure - keine Benzoessäure.

In Übereinstimmung mit DEISEL stehen die Ergebnisse von ZIENER (1972), der mit folgenden Verfahren

UV-Spektroskopie

IR-Spektroskopie

Dünnschichtchromatographie

in frischem Urin keine Benzoessäure nachweisen konnte.

1.2.2. Endogene Faktoren

Die Auswirkung vieler Krankheiten auf die Hippursäureausscheidung ist umstritten oder geringfügig. Aufgrund der besonderen Bedeutung von Leber und Nieren bei der Hippursäureausscheidung kommt es jedoch erwartungsgemäß bei vielen Erkrankungen dieser Organe zu deutlicher Einschränkung der Hippursäurewerte. Diese Verminderung war besonders deutlich bei Patienten mit dekompensierten Nieren, die bis zu 100 % einer verabreichten Benzoessäuremenge als solche wieder ausschieden (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1957), ferner bei Patienten mit chronischem Alkoholismus, Stauungsleber, Hämochromatose und bei ei-

nem Patienten mit chronischer Virushepatitis, Zirrhose und Diabetes (VAN SUMERE und Mitarb. 1969).

Die Multiple Sklerose geht in ihrem Verlauf mit zunehmenden Leber- und/oder Nierenfunktionsstörungen einher. Deshalb sinkt auch hier die Fähigkeit zur Hippursäuresynthese entsprechend der Schwere und Dauer dieses Leidens und des Alters des Patienten immer mehr ab (VOLLGRAFF 1967).

Der Zusammenhang von Leberfunktionsstörungen, besonders bei den an der katatonen Form der Schizophrenie Erkrankten, mit dem Verlauf der Schübe und den floriden Psychosen wird von einigen Autoren für möglich gehalten (LEVY und SAVICH 1952, MOFFER und Mitarb. 1954, STRUWE 1956). Je erregter die Kranken sind, desto niedriger ist die Hippursäureproduktion beim QUICK-Test (STRUWE 1956). Ein verwandtes Phänomen wäre die Bedeutung der Hippursäureausscheidung als zuverlässiger, physiologischer, meßbarer Indikator für den psychischen Zustand der Angst im Sinne von ängstlichem Charakter. Grundsätzlich zeigt bei furchtsamen Personen die Hippursäuremenge im Urin höhere Werte als bei weniger ängstlichen (LA DOU und Mitarb. 1962, GEORGI 1950).

Eine noch ungeklärte Erscheinung ist die endogene Bildung der Hippursäure. Auch unter einer benzoessäure-

freien Diätkost blieb ein gewisser, doch gegen die Normalausscheidung stark verringerter, Betrag an Hippursäure im Urin nachweisbar (ARMSTRONG und Mitarb. 1955). Die endogen produzierte Benzoesäure muß zum Teil aus Phenylalanin entstanden sein, wie mittels radioaktiver Markierung bei Ratten gezeigt wurde (GRÜMER 1961).

1.2.3. Der QUICK-Test

Die Menge der ausgeschiedenen Hippursäure nach Benzoesäuregabe läßt Rückschlüsse auf die Detoxikationsfähigkeit von Leber und Niere zu. Hierbei ist diese Menge durch das von der Leber bereitgestellte Glykokoll begrenzt (STRUWE 1953), wenn exogen zugeführtes Glykokoll fehlt. Der QUICK-Test, ein wichtiger Leberfunktionstest, prüft also die Glykokollmobilisationsfähigkeit, die von der Geschwindigkeit der Synthese weit übertroffen wird (STRUWE 1956). Ein pathologisch niedriger Hippursäurewert im Test kann aus einer fehlerhaften Leberfunktion allein oder kombiniert mit fehlerhafter Nierenfunktion resultieren.

Um diese Unklarheit auszuschalten muß man zusätzlich den modifizierten QUICK-Test durchführen, bei dem gleichzeitig zur Benzoesäure eine doppelt- oder äqui-

molare Menge Glykokoll zugegeben wird. Diese 2 Varianten sind gebräuchlich.

Bei der Durchführung der Tests soll der Proband am Vorabend des Versuchs eine hafer- und obstfreie Mahlzeit einnehmen. Am nächsten Tag wird der Morgenurin verworfen. Der Proband bekommt ein leichtes benzoe-freies Frühstück und erhält dann Natriumbenzoat oral oder intravenös. Der Urin wird gesammelt und quantitativ ausgewertet.

Zwischen beiden Tests ist eine Pause von einem Tag erforderlich um die Ergebnisse nicht zu verfälschen (VOLLGRAFF 1967).

Verschiedene Autoren (LA DOU und Mitarb. 1962, JOHANNSEN und Mitarb. 1962, VOLLGRAFF 1967) fordern vor Testbeginn ein mehrtägiges medikamenten-freies Intervall. Sie vermuten einen Einfluß von dieser Seite auf die Hippursäurebildung. Für einige Medikamente ist dieser Einfluß schon erwiesen (siehe unter 1.2.1.2.).

2. PROBLEMSTELLUNG

Mit dem vorher aufgeführten Einfluß von Nahrung und Medikamenten auf die Hippursäureausscheidung und der Frage, ob Benzoessäure im menschlichen Urin ausgeschieden wird, hängt die Problemstellung dieser Arbeit zusammen.

Zunächst wurde bei einer Versuchsperson die tägliche Hippursäureausscheidung über eine Zeit von etwa 3 1/2 Wochen bestimmt. In einer darauffolgenden Diätzeit von rund 2 Wochen wurde versucht exogene Einflüsse nach Möglichkeit auszuschließen und die Größe der individuellen endogenen Ausscheidung zu bestimmen. Am Ende, aber noch innerhalb dieser Diätphase, wurde ein Medikament, hier Pyramidon, einmalig eingenommen und der Einfluß auf die Hippursäureausscheidung untersucht.

Zur Kontrolle der Genauigkeit und Stichhaltigkeit der Experimente wurden Wiederfindungsversuche sowohl mit Hippursäure als auch mit Benzoessäure durchgeführt.

Die letztgenannten Versuche brachten auch die Möglichkeit, das Vorhandensein von freier Benzoessäure im Urin auszuschließen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Auswahl der Versuchsperson

Da bei den im Abschnitt "Endogene Faktoren" erwähnten Krankheiten mit stark verringerter Hippursäureausscheidungsfähigkeit im Experiment eine mögliche Verfälschung der Ergebnisse auch unter physiologischen Bedingungen nicht ausgeschlossen ist, ist es erforderlich keine Versuchsperson mit diesen Leiden zu diesen Untersuchungen zuzulassen.

Der Autor, 28 Jahre alt, 174 m groß, 74 kg schwer, erfüllte diese Bedingungen.

3.2. Versuchstechnik

Der frische Harn wird sofort mit 20 %iger Weinsäure auf pH 2 - 3 angesäuert und bis zur Untersuchung gekühlt. 25 ml einer jeden Probe werden dreimal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt. Dieser Ätherextrakt wird mit Natriumsulfat wasserfrei gemacht, filtriert und der Äther im Wasserbad verdampft. Der übrigbleibende rötlich-braune Extrakt im Gefäß wird mit 1 ml Alkohol aufgelöst. Von dieser Lösung werden 0,04 ml

auf Fertigplatten der Firma Woelm SiO_2 F 254/366 aufgetragen und mit dem Föhn eingetrocknet. Zum Vergleich der Laufgeschwindigkeiten kommen je 1 Tropfen von in Alkohol gelöster Benzoe- und Hippursäure auf die Platte. Als Laufmittel wird ein Gemisch von 80 ml Chloroform, 20 ml Cyclohexan und 10 ml Eisessig frisch eingesetzt (ZIENER 1972). Die Laufzeit beträgt 1 1/2 bis 2 Stunden. Mit Hilfe der Vergleichslösungen findet man unter der UV-Lampe die Absorption der Hippursäure. Diese Flächen werden markiert, abgekratzt, in Boratpuffer bei pH 10 15 Min. extrahiert und anschließend 5 Min. zentrifugiert. Von der klaren Flüssigkeit wird sogleich 1 ml abpipettiert. In einer Quarz-Küvette wird die Extinktion der Lösung im Wellenbereich von 340 nm bis etwa 200 nm geprüft. Je nach Konzentration der Lösung muß noch mit Boratpuffer verdünnt werden. Das Gerät wird vor jeder Meßserie geeicht. Als Vergleichslösung dient reiner Boratpuffer. Diese erste Messung ergibt eine Kurve mit steilem Anstieg von 340 - 285 nm und anschließend flachem Anstieg bis zum Maximum bei 227 nm.

Bei der zweiten Messung werden zur Probe zwei Tropfen konz. Natronlauge zugegeben. Die Kurve verläuft parallel zur ersten, flacht sich jedoch im Bereich des Maximums noch mehr ab.

Für die dritte Messung wird die Probe mit 3 bis 4 Tropfen konz. Schwefelsäure angesäuert (Prüfung mit Indikatorpapier). Entscheidend ist hier, daß die Maxima dieser und der ersten Kurve bei der gleichen Wellenlänge liegen.

Damit ist die Anwesenheit von Hippursäure qualitativ weitgehend gesichert.

Die quantitative Bestimmung erfolgt aufgrund der Extinktion im Maximum der Absorptionskurve bei pH 10. Mit dieser Methode ist möglich im Gegensatz zur Papierchromatographie (Papier: Schleicher und Schüll Nr. 2043 D, Laufmittel: Butanol-Ammoniak nach ALGERI und WALKER) Hippursäure und Benzoessäure sicher zu differenzieren. Die R_f-Werte unterscheiden sich bei dieser Dünnschichtchromatographie deutlicher (Hippursäure 0,22 und Benzoessäure 0,79) als bei der Papierchromatographie (Hippursäure 0,19 und Benzoessäure 0,37).

3.3. Wiederfindungsversuche mit Hippursäure

Der Vorgang ist zunächst der gleiche wie oben dargelegt. Anschließend wird die Hippursäuremenge in 25 ml Urin ausgerechnet und eine der Hälfte hiervon entsprechende Menge Hippursäure in Form einer wässrigen Lösung bekannter Konzentration zu 25 ml des gleichen Urins zugegeben und das Verfahren wiederholt. Diesmal ergibt sich ein höherer Hippursäuregehalt. Die Differenz zu der ursprünglich vorhandenen Menge, dividiert durch die zugegebene Menge, mal 100 ergibt die Wiederfindungsrate in Prozent der zugesetzten Menge.

Die durchschnittliche Wiederfindung für 6 Messungen betrug 70 % mit einer Streubreite für 90 % aller Einzelwerte von ± 23 %.

(siehe Tabelle 1)

Tabelle 1: Wiederfindungsversuch mit Hippursäure

Datum der Probe	Verd.- faktor	Extink- tion x 100	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Zugabe ($\mu\text{g/ml}$)	Wieder- findung d. Zugabe ($\mu\text{g/ml}$)	Wieder- findungs- rate in %
29.11.a	20	93,5	380	190		
W 29.11.a	30	90	549		169	89
30.11.f	40	55	448	224		
W 30.11.f	50	60	610		162	72
30.11.a	20	73	396	148		
W 30.11.a	20	93	378		82	55
1.12.f	10	95	193	96,5		
W 1.12.f	20	68	276		83	86
13.12.f	10	104	210	105		
W 13.12.f	20	63	256		46	44
16.12.f	10	93	189	94,5		
W 16.12.f	10	62	252		63	67

Durchschnitt ~ 69

W = Wiederfindungsprobe

$\bar{G}$ $\sim 14,28$

$\bar{G}$ $\sim 5,39$

3.4. Wiederfindungsversuch mit Benzoessäure

In den täglichen Urinproben des sechswöchentlichen Versuchs wurde nie vom Körper ausgeschiedene Benzoessäure gefunden; (siehe auch ZIENER 1971). Um die Tauglichkeit der Untersuchungsmethode in dieser Hinsicht zu prüfen, wurde zu einigen Urinproben Benzoessäure zugegeben, und zwar auf 25 ml Urin jeweils 2500, 2000, 1500, 1000 und 500 Mikrogramm.

Die Technik des Versuchs ist bis auf eine Kleinigkeit die gleiche wie schon beschrieben: Wegen des höheren Rf-Wertes der Benzoessäure brauchte die Dünnschichtplatte nur etwa eine Viertelstunde im Laufmittel verweilen.

Bei der Absorptionskurve in Boratpuffer geht der steile Anstieg nur leicht abgeflacht bis zu 250 nm und erst dann in den flachen Teil über. Im übrigen besteht große Ähnlichkeit mit der Absorptionskurve der Hippursäure. Das Maximum liegt jedoch bei 221 nm. Charakteristisch ist für die Benzoessäure, daß das Maximum der mit Schwefelsäure angesäuerten Probe bei um 8 nm größeren Wellenlänge als bei der Probe mit Boratpuffer liegt. Die gefundene Menge wird als prozentualer Anteil der zugefügten angegeben. Die Wiederfindungsrate betrug im Mittel aus neun Versuchen 72 % mit einer Streubreite

für 90 % aller Einzelwerte von ± 10 %.

Die schlechtesten Ergebnisse wurden bei der kleinsten Menge, 20 μ g Benzoesäure in 1 ml Urin, erzielt.

(siehe Tabelle 2)

Tabelle 2: Wiederfindungsversuch mit Benzoesäure

Probe	Verd.- faktor	Extink- tion	Konz.	gefunde- ne Menge	zuge- gebene	Wieder- findungs- rate
		x 100	($\mu\text{g/ml}$)	in (μg)	in (μg)	in %
2500 I	10	58	80	2000	2500	80
2500 II	10	43	57	1425	2500	57
2000 I	10	48	65	1625	2000	81
2000 II	10	46	62	1550	2000	78
1500 I	5	68	46	1150	1500	77
1500 II	5	52,5	36	900	1500	60
1000 I	5	51	35	875	1000	88
1000 II	5	41	27	675	1000	68
500	5	24	12	300	500	60

Durchschnitt ~ 72

$\sigma \sim 11,13$

$\bar{\sigma} \sim 3,73$

3.5. Hippursäureausscheidung im Versuch mit Normalkost

Hier wurde der individuelle Durchschnitt der täglichen Hippursäuremenge bestimmt und die Quantität der Proben aufgezeichnet.

Die Ernährung war Normalkost. Medikamente wurden nicht eingenommen.

Bei den folgenden individuellen Werten sind die ersten 25 Tage bis zum Beginn der Diätzeit berücksichtigt. Der Tagesdurchschnitt betrug 285,69 mg Hippursäure. Die niedrigsten Werte der Hippursäureausscheidung waren 185,48 mg pro Tag, 37,80 mg pro Probe und bei der Konzentration 97 μ g pro ml. Die entsprechenden Maximalwerte betrugen 432,26 mg pro Tag, 273,76 mg pro Probe und 1002 μ g pro ml.

(siehe Tabelle 3 und 4, Abb. I)

3.6. Hippursäureausscheidung im Diätversuch

Es wurde eine spezielle Diät eingehalten, um die Menge der endogenen Hippursäurebildung zu bestimmen. Vermieden wurden Nahrungsmittel auf vegetabilier Basis (Ausnahme: Brot und Kartoffeln), also Obst, Gemüse, Limo-

naden, Fruchtsäfte usw., ferner Kaffee, Tee, Alkohol, Lebensmittel mit Konservierungsmitteln, Gewürze und alle Arten von Medikamenten.

Die tägliche Hippursäureausscheidung ging vom Beginn der Diät drei Tage lang kontinuierlich zurück und schwankte vom vierten Tag an nur noch um den Durchschnittswert von 189,24 mg pro Tag mit Abweichung von rund 11 mg nach oben und 12,5 mg nach unten.

Es schien richtig sowohl die Werte der Hippursäureausscheidung dieser dreitägigen Übergangsphase bei der Betrachtung über Maximal- und Minimalwerte außer Acht zu lassen und bei der Berechnung der Durchschnittswerte nicht zu berücksichtigen als auch die unter 3.8. aufgeführten zwei Mittagsprobenwerte mit den dazugehörenden Abendprobenwerten zu einem Gesamtwert zusammenzufassen, wie er sich normalerweise ergeben hätte.

Die niedrigsten Werte an ausgeschiedener Hippursäure in der Diätzeit waren 176,95 mg pro Tag, 61,06 mg pro Probe und bei der Konzentration 116 μ g pro ml. Dem standen 200,37 mg pro Tag, 127,97 mg pro Probe und 210 μ g pro ml als größte Werte gegenüber.

(siehe Tabelle 5 und 6, Abb. I)

3.7. Das Pharmakon

Um den Einfluß eines Pharmakons auf die Hippursäureausscheidung im Urin zu prüfen wurden 300 mg Pyramidon als einziger exogener Faktor noch während der Diätzeit eingenommen.

Subjektive Auswirkungen traten nicht auf.

Der Stoffwechsel des Pyramidon (Dimethylaminophenazon = 1-Phenyl-2,3-dimethyl-4-dimethylamino-5-pyrazolon) ist qualitativ gut aufgeklärt. Der Abbau beginnt mit der Demethylierung der 4-Dimethylaminogruppe und führt über 4-Methylaminophenazon zu 4-Aminophenazon. Daneben finden sich 4-Methylacetylaminophenazon und 4-Acetylaminophenazon und noch andere Verbindungen (JAFJE 1901, JAFJE 1902, HALBERKANN und FRETWURST 1950, BRODIE und AXELROD 1950, PECHTOLD 1964, PREUSS und VOIGT 1965, SCHÜPPEL und SOEHRING 1965, VECERKOVA und Mitarb. 1966, VECERKOVA und Mitarb. 1967).

Nach KLUG (1970) erscheinen bei therapeutischer Dosierung 0 - 5 % unverändert, 5 - 23 % als Aminophenazon und 29 - 46 % als Acetylaminophenazon im Urin. Es lassen sich 60 % des eingenommenen Pyramidon wiederfinden. Pyramidon wird von den Farbwerken Hoechst AG in Frankfurt hergestellt. Seiner Indikation nach ist es ein

Analgetikum, Antipyretikum und Antirheumatikum.

Das Dimethylaminophenazon ist unter anderem auch in Arantil, einem Analgetikum speziell für den Zahn-, Mund- und Kieferbereich, und in Optalidon, einem Tagesanalgetikum, enthalten.

3.8. Hippursäureausscheidung nach Pyramidoneinnahme

Am 12. Tag der Diätzeit wurde gleich nach Gewinnung der Morgenurinprobe einmalig 0,3 g Pyramidon eingenommen. Die nächste Urinprobe folgte fünf Stunden später. Die Konzentration an Hippursäure war mit 414 $\mu\text{g/ml}$ gegenüber dem Durchschnitt der Diätproben von 172,25 $\mu\text{g/ml}$ wesentlich erhöht. Allerdings war die Urinmenge sehr gering, sodaß die Tagesmenge unwesentlich über dem Durchschnitt lag.

Eine drei Tage später zur Kontrolle genommene Mittagsprobe, auch fünf Stunden nach der Morgenprobe, zeigte mit 304 $\mu\text{g/ml}$ ebenfalls eine erhebliche Konzentrationserhöhung bei durchschnittlichem Tageswert. Die Annahme liegt nahe, daß es sich nur um eine Abhängigkeit von den niedrigen Urinvolumina (130 bzw. 200 ml) handelt. Bei der Probe mit der kleineren Urinmenge war die Kon-

zentration größer und umgekehrt. Beide Mittagsproben enthielten aber annähernd gleiche Mengen Hippursäure: 53,82 und 60,80 mg (siehe Tabelle 6, Abb. I).

Benzoessäure wurde weder am Tag der Medikamenteneinnahme noch an den folgenden Tagen im Urin gefunden.

Tabelle 3: Hippursäureausscheidung während des Normalversuchs

Datum der Probe	Verd.- faktor	Extink- tion x 100	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Urin- menge pro Probe (ml)	Hippur- säure pro Probe (mg)	Hippur- säure pro Tag (mg)
11.11.f	20	0,58	236	370	87,32	193,18
11.11.a	20	33	134	790	105,86	
12.11.f	20	65	264	390	102,96	293,88
12.11.a	20	63,5	258	740	190,92	
13.11.f	10	69,5	141	630	88,83	245,39
13.11.a	10	1,01,5	206	760	156,56	
14.11.f	10	88,5	180	540	97,20	189,66
14.11.a	20	34	138	670	92,46	
15.11.f	20	31	126	300	37,80	185,48
15.11.a	20	51,5	208	710	147,68	
16.11.f	20	75,5	307	450	138,15	386,31
16.11.a	20	92,5	376	660	248,16	
17.11.f	20	80	326	360	117,36	225,60
17.11.a	10	80,5	164	660	108,24	
18.11.f	20	82,5	336	300	100,80	262,08
18.11.a	20	55	224	720	161,28	
19.11.f	20	81	330	440	145,20	205,34
19.11.a	10	48	97	620	60,14	
20.11.f	10	50	101	450	45,45	203,21
20.11.a	20	57	232	680	157,76	
21.11.f	10	69	140	580	81,20	224,20
21.11.a	20	54	220	650	143,00	
22.11.f	60	82	1002	250	250,50	432,26
22.11.a	20	70	284	640	181,76	
23.11.f	20	99	402	600	241,20	428,16
23.11.a	20	60,5	246	760	186,96	

f = Morgenprobe

a = Abendprobe

Tabelle 4: Hippursäureausscheidung während des Diätversuchs

Datum der Probe	Verd.- faktor	Extink- tion x 100	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Urin- menge pro Probe (ml)	Hippur- säure pro Probe (mg)	Hippur- säure pro Tag (mg)
24.11.f	10	51	103	490	50,47	324,23
24.11.a	40	58	472	580	273,76	
25.11.f	20	96	390	350	136,50	262,08
25.11.a	10	79	161	780	125,58	
26.11.f	10	80	163	550	89,65	310,09
26.11.a	20	82	334	660	220,44	
27.11.f	10	67	136	560	76,16	289,74
27.11.a	20	89	362	590	213,58	
28.11.f	20	72	292	590	172,28	260,00
28.11.a	10	101	204	430	87,72	
29.11.f	10	86,	175	380	66,50	309,70
29.11.a	20	93,5	380	640	243,20	
30.11.f	40	55	448	330	147,44	375,36
30.11.a	20	73	296	770	227,92	
1.12.f	10	95	193	610	117,73	266,23
1.12.a	20	49	198	750	148,50	
2.12.f	20	100	404	340	137,36	331,92
2.12.a	20	63	256	760	194,56	
3.12.f	20	91	370	410	151,70	358,20
3.12.a	20	68	276	750	206,50	
4.12.f	10	85	173	580	100,34	245,06
4.12.a	20	66	268	540	144,72	
5.12.f	30	51	309	670	207,03	334,83
5.12.a	20	70	284	450	127,80	

Tabelle 5: Hippursäureausscheidung während des Diätversuchs

Datum der Probe	Verd.- faktor	Extink- tion x 100	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Urin- menge pro Probe (ml)	Hippur- säure pro Probe (mg)	Hippur- säure pro Tag (mg)
6.12.f	40	59	480	380	182,40	404,40
6.12.a	20	74	300	740	222,00	
7.12.f	20	63	256	560	143,36	265,50
7.12.a	10	97	197	620	122,14	
8.12.f	10	102	206	430	88,58	246,70
8.12.a	20	58	236	670	158,12	
9.12.f	10	91	185	480	88,80	180,96
9.12.a	10	71	144	640	92,16	
10.12.f	10	90	183	500	91,50	197,52
10.12.a	10	84	171	620	106,02	
11.12.f	10	93	189	450	85,05	187,07
11.12.a	10	86,5	176	580	102,02	
12.12.f	10	89	181	520	94,12	200,27
12.12.a	10	95	193	550	106,15	
13.12.f	10	104	210	360	75,60	181,75
13.12.a	10	95	193	550	106,15	
14.12.f	10	72	146	460	67,16	179,36
14.12.a	10	81	165	680	112,20	
15.12.f	10	57	116	540	62,64	176,95
15.12.a	10	79	161	710	114,31	
16.12.f	10	93	189	360	68,04	196,01
16.12.a	10	94	191	670	127,97	

Tabelle 6: Hippursäureausscheidung während des Diätversuchs

Datum der Probe	Verd.- faktor	Extink- tion x 100	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Urin- menge pro Probe (ml)	Hippur- säure pro Probe (mg)	Hippur- säure pro Tag (mg)
17.12.f	10	82	167	440	73,48	
Gleich nach der Probe 17 f erfolgte die Medikamenteneinnahme.						193,30
Die Probe 17 m wurde 5 Stunden danach genommen.						
17.12.m	30	68	414	130	53,82	
17.12.a	10	65	132	500	66,00	
18.12.f	10	70	142	430	61,06	
18.12.a	10	93	189	720	136,08	197,14
19.12.f.	10	74	150	430	64,50	
19.12.a	10	85	173	690	119,37	183,87
20.12.f	10	82	167	480	80,16	
5 Stunden nach der Probe 20 f folgte 20m						196,72
20.12.m	20	75	304	200	60,80	
20.12.a	10	67	136	410	55,76	

Tabelle 7: Hippursäureausscheidung in den Tagen nach der Diät

Datum der Probe	Verd.- faktor	Extink- tion x 100	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Urin- menge pro Probe (ml)	Hippur- säure pro Probe (mg)	Hippur- säure pro Tag (mg)
21.12.f	10	77	157	470	93,79	
12.12.a	60	80	978	660	645,48	739,27
22.12.f	20	82	334	510	170,34	
22.12.a	20	73	296	590	174,64	344,98
23.12.f	20	89	362	370	133,94	
23.12.a	20	84	342	710	242,82	376,76

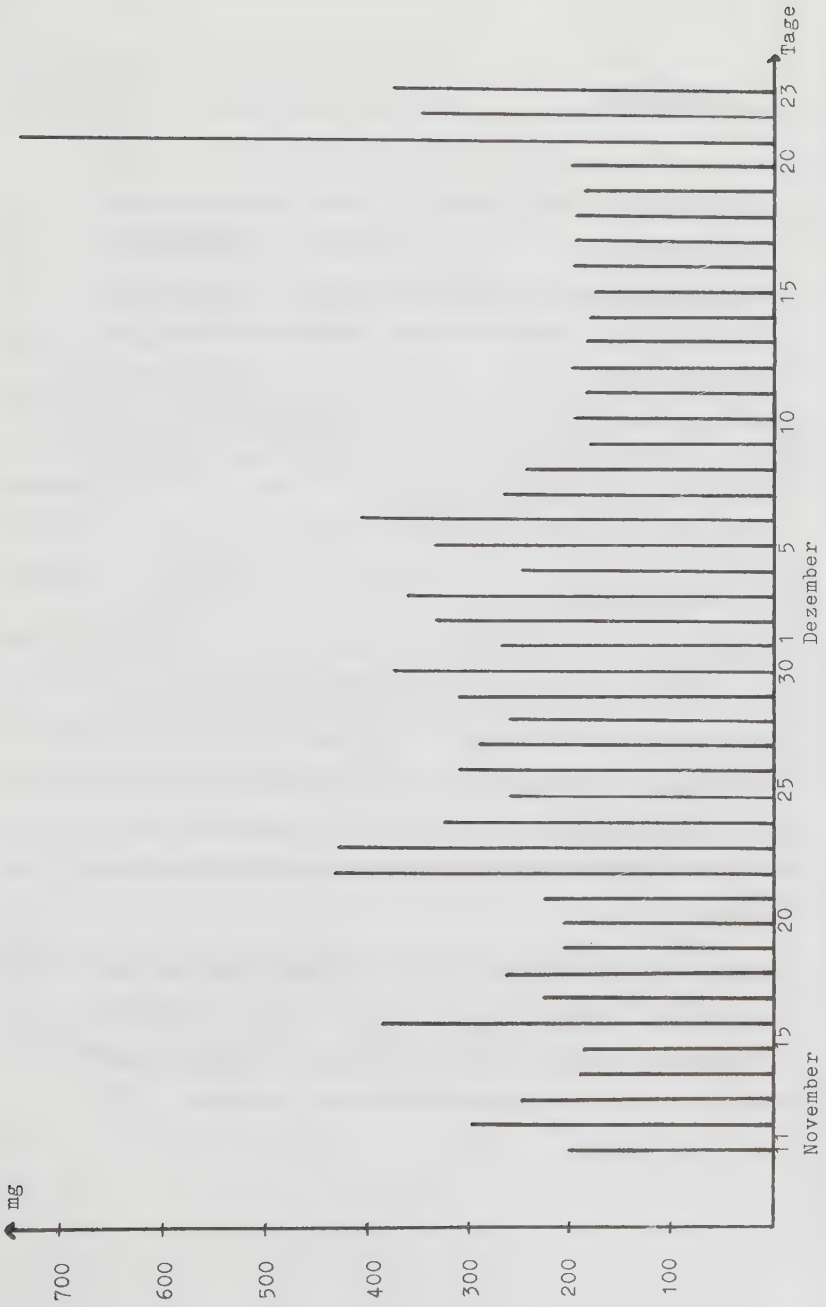


Abb. I Schwankung der Tagesmengen an ausgeschiedener Hippursäure (mg) im Verlauf der Untersuchung

4. DISKUSSION

Zuerst soll der eventuelle Einwand entkräftet werden die nur zweimalige Urinentleerung pro Tag führe unwillkürlich zu geringerer Flüssigkeitsaufnahme und somit über kleinere Urinvolumina - RIEDER konnte 1955 und 1956 die Abhängigkeit der ausgeschiedenen Hippursäuremenge vom Urinvolumen nachweisen - zu verminderter Hippursäureausscheidung. Die durchschnittliche Urinmenge der ersten 10 Tage lag nur um etwa 0,7 % höher als die der letzten 10.

4.1. Normalversuch

Die geringste Tagesmenge und zwei weitere sehr niedrige Werte langen in den ersten 5 Tagen, während derer der Autor, auf eigene Kochkünste angewiesen, ungewollt fast Diätbedingungen erfüllte. Die kleinste Menge pro Probe fand sich am Tag mit der geringsten Tagesmenge. Hier trafen niedrige Konzentration und geringes Urinvolumen zusammen.

Die größte Hippursäuremenge einer Einzelprobe war mehr als siebenmal so hoch wie die kleinste. Das Verhältnis von Maximal- zu Minimalwert betrug bei der Konzentration knapp 10 : 1, bei den Tageswerten noch etwa 7 : 3.

Diese starken und unregelmäßigen Schwankungen (Abb. I) sind wohl auf den Einfluß der Ernährung zurückzuführen.

4.2. Diätversuch

Einige Unterschiede zum Normalversuch fallen während der Diätzeit auf.

Zunächst dauerte es drei Tage bis die Tageswerte auf die Durchschnittsmenge abgesunken waren (Abb. I). Dies bedeutet, daß vor einem QUICK-Test mindestens drei Diättage einzuhalten wären, um von der Ernährung der Patienten unabhängige Ergebnisse zu erzielen.

Das Verhältnis von größter Menge einer Einzelprobe und Konzentration pro Probe zur entsprechenden kleinsten Menge bzw. Konzentration betrug rund 2 : 1.

Der Unterschied von größter zu kleinster Tagesmenge war gering. Diese Schwankung der Tageswerte kann bedeuten, daß geringe Benzoessäureaufnahme durch die Nahrung nicht völlig auszuschließen war. Andererseits wurden die Urinproben nicht zur genau gleichen Stunde genommen, sodaß sich Zeiträume von etwa 23 bis 25 Stunden ergaben und die Mengen entsprechend schwanken mußten.

4.3. Pyramidoneinnahme und Hippursäureausscheidung

Wir haben die Wirkung von Pyramidon auf die Hippursäureausscheidung statistisch mit Hilfe der t-Prüfung überprüft. Es ergab sich mit 99,9 %iger Sicherheit kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Hippursäureausscheidung während der Diät vor und nach Pyramidoneinnahme.

4.4. Die Tage nach der Diätzeit

Im Anschluß an die Diät wurde wieder beliebige Nahrung eingenommen, um deren Einfluß auf die Hippursäureausscheidung nochmals zu überprüfen. Gleich am ersten Tag wurden mit 739,27 mg der höchste Tageswert und mit 645,48 mg der höchste Einzelwert sämtlicher Einzelmessungen erreicht, vermutlich hervorgerufen durch sonst nicht üblichen starken Kaffeegegnuß. Insgesamt lagen in diesen drei Tagen die Werte höher als im Normalversuch, da als Nachholbedarf viel Obst und Gemüse gegessen wurde. Aus diesem Grund wurden diese Tage bei den Betrachtungen und Vergleichen der Werte nicht miteinbezogen.

4.5. Vergleich der Werte bei Diät- und Normalkost

Die Hippursäureausscheidung bei Normal- und Diätkost war unterschiedlich. Der Mittelwert bei normaler Ernährung war signifikant höher als der Mittelwert bei Diät. Diese statistische Analyse wurde mit der t-Prüfung durchgeführt. Die Sicherheit der Aussage beträgt 99,9 %. Das beweist, daß die beliebig gewählte Nahrung Benzoesäure und/oder deren Vorstufen enthielt. Ein Schluß auf bestimmte Speisen war nicht möglich.

Auffällig war das geringe Schwanken auch der Einzelprobenwerte während der Diätzeit - für die Tageswerte wurde diese Konstanz schon weiter oben als typisch erkannt - gegenüber denen des Normalversuchs. Selbst bei der Schwankungsbreite der Hippursäurekonzentration im Urin, die ja stark von der Flüssigkeitsaufnahme abhing, zeigte sich der ausgleichende Einfluß der Diät, da das Verhältnis von größter zu kleinster Konzentration bei Normalkost fünf mal so groß war wie unter Diätbedingungen.

4.6. Unterschiedliche Hippursäuremengen der Morgen- und Abendproben

Ein anderes Faktum schien der Versuch noch zu beweisen; nämlich, daß der Morgenurin als Folge einer verminderten Synthese- bzw. Ausscheidungstätigkeit während der

Nacht weniger Hippursäure enthielt, da die Durchschnittswerte der Morgenproben mit 119,49 mg (Normalkost) und 76,01 mg (Diät) deutlich niedriger lagen als die der Abendproben mit 166,20 mg (Normalkost) und 113,23 mg (Diät). Es ist aber zu beachten, daß die Morgenproben den Urin von etwa 10 und die Abendproben den von rund 14 Stunden enthielten. Auf mg pro Stunde umgerechnet findet man - für Nacht- und Tagstunden gleich - eine Ausscheidung von rund 11,9 mg/h im Normalversuch und von rund 7,6 mg/h im Diätversuch. Ein gleichmäßiges Arbeiten der Leber und Nieren bei der Entgiftung der Benzoesäure kann also angenommen werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Unter Berücksichtigung exogener und endogener Faktoren wurde bei einer Versuchsperson die individuelle Hippursäureausscheidung und der Einfluß eines Medikamentes, Pyramidon^R, auf sie geprüft.

Sämtliche Hippursäurewerte der eigenen Untersuchungen während des Normalversuchs und der Diätzeit lagen im Bereich der Norm (siehe 1.1.6.).

Durch eine benzoessäurefreie Diät sanken die Tagesmengen an Hippursäure auf einen nahezu konstanten endogenen Wert ab. Die Übergangszeit dauerte drei Tage.

Das während der Diät eingenommene Pharmakon, 0,3 g Pyramidon, veränderte die Hippursäureausscheidung nicht.

Zwischen Tag und Nacht konnte keine unterschiedliche Quantität der Hippursäurebildung festgestellt werden.

Während der 6 Wochen dauernden Untersuchungen wurde keine vom Körper ausgeschiedene Benzoessäure im Urin gefunden.

Aufgrund der Ergebnisse der Wiederfindungsversuche mit Hippursäure und Benzoessäure kann für beide Säuren eine gleichwertige Genauigkeit der Untersuchungsmethode angenommen werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

ADAMSON, R.H., J.W. BRIDGES, M.E. EVANS,
R.T. WILLIAMS:

Species differences in the aromatization of
quinic acid in vivo and the role of gut bacteria.
Biochem. J. 116, 437 (1970)

ALMQUIST, H.J.:

Principles of amino acid balance.
Arch. Biochem. 46, 250 (1953)

AMSEL, L.P., G. LEVY:

Drug biotransformation interactions in man:
A pharmacokinetic study of the simultaneous conju-
gation of benzoic and salicylic acids with glycine.
J. Pharm. Sci. 58, 321 (1969)

ANONYMUS:

Methenamine hippurate (Hiprex).
Med. Lett. Drugs Ther. 10, 58 (1968)

ARMSTRONG, M.D., F.Ch. CHAO, V.J. PARKER, P.E. WALL:
Endogenous formation of hippuric acid.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90, 675 (1955)

BEER, C.T., F. DICKENS, J. PEARSON:

The aromatization of hydrogenated derivatives
of benzoic acid in animal tissues.

Biochem. J. 48, 222 (1951)

BERNHARD, K., J.P. VUILLEUMIER, G. BRUBACHER:

Zur Frage der Entstehung der Benzoesäure im
Tierkörper.

Helv. Chim. Acta XXXVIII, 1438 (1955)

BODEL, Ph.T., R. COTRAN, E.H. KASS:

Cranberry juice and the antibacterial action
of hippuric acid.

J. Lab. Clin. Med. 54, 881 (1959)

BÖMER, A., A. JUCKENACK, J. TILLMANS:

Handbuch der Lebensmittelchemie.

Band I, "Allgemeine Bestandteile der Lebensmittel"

Springer, Berlin 1933

BRIDGES, J.W., M.R. FRENCH, R.L. SMITH, R.T. WILLIAMS:

The fate of benzoic acid in various species.

Biochem. J. 118, 47 (1970)

COTRAN, R., M.I. KENDRICK, E.H. KASS:

Role of intestinal bacteria in aromatization
of quinic acid in man and guinea pig.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 424 (1960)

DERACHE, R., J. GOURDON:

Métabolisme d'un conservateur alimentaire:
l'acide parahydroxybenzoïque et ses esters.
Food. Cosmet. Toxic. 1, 189 (1963)

DESPOPOULOS:

Congruence of excretory function in liver
and kidney: hippurates.
Amer. J. Physiol. 210, 760 (1966)

DICKENS, F., J. PEARSON:

The micro-estimation of benzoic and hippuric
acids in biological material.
Biochem. J. 48, 216 (1951)

FISCHER, R., F. GEORGI, R. WEBER:

Psychophysische Korrelationen VIII.
Modellversuche zum Schizophrenieproblem
Lysergsäurediäthylamid und Mezcalin.
Schweiz. Med. Wschr. 81, 817 und 837 (1951)

FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1a
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954a

FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2a
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956

FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2b
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957

FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2d
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966

GARFINKEL, D.:

A metabolic inhomogeneity of glycine in vivo.

J. Biol. Chem. 238, 2435 (1963)

GARFINKEL, D., A. LAJTHA:

A metabolic inhomogeneity of glycine in vivo.

J. Biol. Chem. 238, 2429 (1963)

GEORGI, F.:

Konstitutionspathologische Probleme bei endogenen
Psychosen.

Arch. Psychiat. Nervenkr. 185, 603 (1950)

GRÜMER, H.-D.:

Formation of hippuric acid from phenylalanine
labelled with carbon-14 in phenylketonuric
subjects.

Nature 189, 63 (1961)

HOFFER, A., H. OSMOND, J. SMYTHIES:

Schizophrenia: A new approach.

II. Result of a year's research.

JOHANNSEN, W.J., S.H. FRIEDMANN, E.I. FELDMANN,

A. NEGRETE:

A re-examination of the hippuric acidanxiety
relationship.

Psychosom. Med. 24, 569 (1962)

KNÖFEL, P.K., K.C. HUANG, C.H. JARBOE:

Renal disposal of salicyluric acid.

Amer. J. Physiol. 203, 6 (1962)

LA DOU, J., G.L. ELLMAN, E. CALLAWAY, I.F. EDMINSTER,

R.L. CHRISTENSEN:

Correlates of manifest anxiety.

J. Psychosom. Res. 6, 41. (1962))

LANG, K.:

Verträglichkeit der Benzoesäure.

Zschr. Lebensmittelunters. Forsch. 112, 394 (1960)

LEVI, R., M. SAVICH:

Klinische Erfahrungen über die Leistungsfähigkeit
des modifizierten Hippursäuretests und einer
neuen Leberstütztherapie bei Schizophrenen.

Arch. Psychiat. Nervenkr. 188, 26 (1952)

LOWE, G., A. WILLIAMS:

Papain catalysed hydrolysis of some hippuric esters.

Biochem. J. 96, 199 (1965)

MØLLER, K.O.:

Pharmakologie. 4. Auflage

Benno Schwabe & Co., Basel/Stuttgart 1961

PAGNOTTO, L.D., L.M. LIEBERMAN:

Urinary hippuric acid excretion as an index of
toluene exposure.

Amer. Industr. Hyg. Ass. J. 28, 129 (1967)

QUICK, A.J.:

Synthesis of hippuric acid: new test of liver
function.

Amer. J. Med. Sci. 185, 630 (1933)

RIEDER, H.P.:

Zur Frage der Normalwerte beim QUICK'schen Hippur-
säuretest und seiner Abhängigkeit vom Urinvolumen.

Helv. Med. Acta 22, 210 (1955)

RIEDER, H.P.:

Weitere Beiträge zur Abhängigkeit der Hippursäure-
ausscheidung von der Größe des Urinvolumens und
ihre Bedeutung für die Klinik.

Z. Klin. Med. 154, 87 (1956)

SCHACHTER, D.:

The chemical estimation of acyl glucuronides and its application to studies on the metabolism of benzoate and salicylate in man.

J. Clin. Invest. 36, 297 (1957)

SCHANKER, L.A., D.J. TOCCO, B.B. BRODIE,

C.A.M. HOGGEN:

Absorption of drugs from the rat small intestine.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 123, 81 (1958)

SCHMIDT, G.:

Vorkommen und Ausscheidung von α -Äthyl- α -Oxy-buttersäure nach Adalinalaufnahme.

Arch. Exper. Path. Pharmacol. 229, 67 (1956)

SCHMIDT, G.:

Papierchromatographische Vorprobe bei der toxi-kologischen Harnanalyse.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 49, 259 (1959)

STEIN, W.H., A.C. PALADINI, C.H.W. HIRS, S. MOORE:

Phenylacetylglutamine as a constituent of normal human urine.

J. Amer. Chem. Soc. 76, 2848 (1954)

STRUWE, F.E.:

Untersuchungen an Schizophrenen mit der kombinierten Hippursäureprobe und mit Serumlabilitätsreaktionen.

Schriftenreihe LKH, Schleswig-Stadtfeld 2, 1 (1953)

STRUWE, F.E.:

Benzoessäureentgiftung bei Schizophrenen.

Nervenarzt 27, 25 (1956)

VAN SUEMERE, C.F., H. TEUCHY, H. PE, R. VERBEKE,
J. BEKAERT:

Quantitative investigation on the hippuric acid formation in healthy and diseased individuals.

Clin. Chim. Acta 26, 85 (1969)

VOGEL, G., J. STÖCKERT, U. TERVOOREN:

Hemmung renal tubulärer Substanztransporte durch Diuretika.

Arch. Pharm. Exp. Path. 255, 245 (1966)

VOLLGRAFF, G.:

Entgiftungs- und Ausscheidungskapazität verschiedener Formen der multiplen Sklerose im kombinierten Hippursäuretest.

Psychiat. Neurol. 154, 50 (1967)

WEBB, R.E., E. SHAH, E.L.R. STOKSTAD:

Effect of folic acid and vitamin B₁₂ on excretion
of hippuric acid and forminoglutamic acid.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121, 19 (1966)

WILLIAMS, R.T.:

Detoxication Mechanism. 2. Auflage

Chapmann & Hall LTD, London 1959

WU, H., H.C. ELLIOTT jr.:

Urinary excretion of hippuric acid by man.

J. Appl. Physiol. 16, 553 (1961)

ZIENER, H.:

Untersuchungen zur Frage der Ausscheidung von

Hippursäure und Benzoesäure im menschlichen Harn.

Dissertation, Erlangen 1972

Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig danke ich für die freundliche Unterstützung durch Überlassung eines Arbeitsplatzes, für Ratschläge bei der Abfassung der Arbeit und die Übernahme des Korreferates.

Besonders herzlich danke ich Frau Professor Dr. Dr. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung des Themas und ihr freundliches, hilfreiches Entgegenkommen.

Lebenslauf

Ich wurde am 18. Mai 1945 als einziger Sohn des
Dentisten Rudolf Schubert und seiner Ehefrau
Marie, geb. Jitzsek, in Braunsau/Suk. geboren.

In Rhingen/Wir. besuchte ich die Volksschule, in
Dinkelsbühl und Dornmarkt/Opf., wo ich 1962 mit
dem Abitur abschloß, das Humanistische Gymnasium.
Das anschließende Studium der Zahnmedizin in Erl-
angen beendete ich Anfang 1968 mit dem Staats-
examen. Die darauffolgende Zeit war ich als Zahn-
arzt tätig, 18 Monate davon bei der Bundeswehr.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel.22990